甜茶的化学成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

阳丙媛，何瑞杰，王亚凤，颜小捷，黄永林*

（广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室，广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所，广西 桂林 541006）

摘要：为探究甜茶（*Rubus suavissimus*）中具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的次级代谢产物，该文利用多种现代色谱分离技术对其干燥叶进行提取分离纯化，综合运用质谱、核磁共振波谱分析方法确定了单体化合物的结构，同时，对分离得到的化合物进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性的测试。结果表明：（1）从甜茶的干燥叶中分离鉴定出 10 个化合物，分别为甜茶苷（1）、山奈酚-3-*O*-洋槐糖苷（**2**）、没食子酸（**3**）、二聚松柏醇（**4**）、5-甲氧基二聚松柏醇（**5**）、云实酸（**6**）、斯替维单糖苷（**7**）、斯替维醇（**8**）、16 α ,17-二羟基对映贝壳杉烷（**9**）、槲皮素-3-*O*- β -D-吡喃半乳糖苷（**10**），其中化合物 **2**、**4**、**5**、**9** 为首次从甜茶中分离得到；（2） α -葡萄糖苷酶抑制活性测试结果显示，化合物 **2**、**3**、**5**、**6**、**10** 具有较强的 α –葡萄糖苷酶抑制活性。该研究丰富了甜茶中具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的化合物，为降血糖相关产品的开发提供了理论依据。

关键词：甜茶， α -葡萄糖苷酶，悬钩子属，蔷薇科，糖尿病

中文分类号：Q946　　　　**文献标识码**：　　　　**文章编号**：

Chemical constituents from *Rubus suavissimus* and their α -glucosidase inhibitory activity

YANG Bingyuan, HE Ruijie, WANG Yafeng, YAN Xiaojie, HUANG Yonglin

(*Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences*, Guilin 541006, Guangxi, China)

基金项目：广西科学院基本科研业务费项目（CQZ-C-1901）；广东省重点领域研发计划资助(2020B1111110003)[Supported by Basic research fund of Sciences(CQZ-C-1901);Key-Area Research and Development Program of Guangdong Province(2020B1111110003)]。

第一作者：阳丙媛（1990-），硕士，助理研究员，主要从事天然产物化学研究，（E-mail）616480587@qq.com。

***通信作者**：黄永林，研究员，主要从事天然产物研究与开发，（E-mail）hyl@gxib.cn。

Abstract: *Rubus suavissimus* is mainly distributed in Guilin, Liuzhou, Wuzhou and other regions in Guangxi Zhuang Autonomous Region, so it is called as “Guangxi tiancha” in Chinese. *R. suavissimus*, together with *Siraitia grosvenorii* and *Stevia rebaudianastevia* are praised as three famous sweet plants in Guangxi Zhuang Autonomous Region. Zhuang and Yao people use the leaves of *R. suavissimus* as a tea to treat diabetes, and it is known as the “divine tea” of Yao medicine. Therefore, *R. suavissimus* is a combination of sugar, tea and medicine, which has great potential for the development of food and medicine. In order to investigate the secondary metabolites with α-glucosidase inhibitory activity from *R. suavissimus*, herein, the extraction, separation and purification of secondary metabolites were performed on the leaves of *R. suavissimus*. The structures of purified compounds were determined based on the data of mass spectrometry (HR-ESI-MS) and nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR and ^{13}C NMR). In addition, the α-glucosidase inhibitory activity of the purified compounds were evaluated by pharmacological methods simultaneously. The results were as follows: (1) Ten compounds were purified and their structures were elucidated as rubusoside (**1**), kaempferol 3-*O*-robinobioside (**2**), gallic acid (**3**), dehydroconiferyl alcohol (**4**), 5-methoxydehydroconiferyl alcohol (**5**), brevifolincarboxylic acid (**6**), steviolmonoside (**7**), steviol (**8**), 16α, 17-dihydroxykaurane (**9**), and quercetin 3-*O*-β-D-galactopyranoside (**10**). (2) Among them, compounds **2**, **4**, **5** and **9** were isolated from *R. suavissimus* for the first time. Compounds **2**, **3**, **5**, **6** and **10** showed strong inhibitory activity on α-glucosidase. The IC_{50} values of compounds **2**, **3**, **5**, **6** and **10** were (0.14 ± 0.03) mg • mL^{-1}, (0.36 ± 0.02) mg • mL^{-1}, (0.44 ± 0.01) mg • mL^{-1}, (0.53 ± 0.04) mg • mL^{-1} and (0.14 ± 0.03) mg • mL^{-1} respectively, which were stronger than the positive control acarbose with the IC_{50} values as (0.69 ± 0.02) mg • mL^{-1}. Thus, compounds **2**, **3**, **5**, **6** and **10**, which were isolated from the leaves of *R. suavissimus*, could be a potential α-glucosidase inhibitors base on their bioactivity results. Compounds with α-glucosidase inhibitory activity from *R. suavissimus* will provide the basis for development of hypoglycemic related products.

Key words：*Rubus suavissimus*, α-glucosidase, *Rubus,* Rosaceae, diabetes

甜茶（*Rubus suavissimus*），为蔷薇科悬钩子属植物（Liu et al., 2020），主要分布于广西桂林、柳州、梧州等地区，故又被称为广西甜茶（闫志刚等，2017），与罗汉果、甜叶菊并称广西三大甜味植物。壮族和瑶族人民将其作为茶饮用于治疗糖尿病，被誉为瑶药中的“神

茶"（郑华等，2019）。壮医记载其具有解热毒，通龙路，调气道、水道的功效(广西壮族自治区壮药质量标准，2011)。甜茶集糖、茶、药于一体，极具食品及药品开发的潜力。

随着生活水平的提高和老龄化进程的加快，糖尿病已经成为严重影响人类身体健康和生活质量的慢性疾病。为了维持血糖处于正常水平，糖尿病患者需要长期服用降血糖药物，以避免因高血糖而导致的并发症，如器官损伤、甚至衰竭等。α-葡萄糖苷酶抑制剂是一种重要的降血糖药物，临床一线药物有阿卡波糖、伏格列波糖等，但是这类药物易导致胃肠道紊乱、肝功能受损等（朱月霞等，2021）。因此，研发安全的新型α-葡萄糖苷酶抑制剂对糖尿病的治疗具有重要意义。现代化学和药理学研究表明，甜茶的主要化学成分为萜类、黄酮类、酚酸类，具有降血糖、抗过敏、抗炎等生物活性（吴家超等，2021）。当前，对甜茶降血糖作用的相关研究多见于其提取物（蒙淑洁等，2019；Su et al., 2020；吴婕和宫江宁，2021），而对甜茶中的α-葡萄糖苷酶抑制作用的物质基础研究较少（Liu et al., 2020），潜在的活性物质尚待开发。甜茶作为降糖茶饮的历史悠久，为了丰富其具有α-葡萄糖苷酶抑制作用的活性物质基础，本研究综合运用现代色谱分离技术对甜茶叶进行系统分离，进而对分离得到的化合物单体进行活性研究，以期发现更多具有α-葡萄糖苷酶抑制活性的化合物，为后续相关降血糖产品的开发提供科学的理论依据。

1　仪器与方法

1.1　材料

样品于 2019 年 7 月采集于广西壮族自治区桂林市灌阳县，经广西植物研究所唐辉研究员鉴定为甜茶（*Rubus suavissimus*）的叶子，样品的标本保存于广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室（标本号：20190753）。

1.2　仪器和试剂

XS205 DualRange 分析天平（瑞士苏黎世的梅特勒-托利多集团），LCMS-IT-TOF 高分辨质谱仪（日本岛津公司），Avance Ⅲ HD 500 MHz 核磁共振波谱仪（德国布鲁克公司），LC-20AT 高效液相色谱仪（日本岛津公司），旋转蒸发仪（日本东京理化公司），CF810C 冷却水循环仪（日本雅马拓公司），SP-MAX3500FL 多功能酶标仪（上海闪谱生物科技有限公司）。

阿卡波糖（上海源叶生物科技有限公司），对硝基苯-α-D-吡喃葡萄糖苷（*p*NPG，上海源叶生物科技有限公司），α-葡萄糖苷酶（美国西格玛奥德里奇公司），无水碳酸钠（西陇化工股份有限公司），磷酸缓冲液（PBS，北京索莱宝科技有限公司），分析甲醇（西陇化工股份有限公司），分析乙醇（西陇化工股份有限公司），色谱甲醇（美国斯百全公司），色谱

乙腈（美国斯百全公司）。

1.3　提取与分离

取甜茶的干燥叶（5.5 kg），加入95%乙醇溶液于室温下浸泡提取3次，每次7 d，合并提取液，减压回收溶剂后得到总浸膏（432.2 g）。总浸膏中加入40%乙醇水溶液，充分溶解，静置分层，弃去下层沉淀物，将上清液减压回收溶剂至无醇味后，经凝胶柱Sephadex LH-20（10 cm × 30 cm），以甲醇-水溶液（0% ~ 100%，*V/V*）为洗脱剂进行梯度洗脱，在薄层色谱分析指导下合并洗脱液，得到11个组分Fr.1-Fr.11。

Fr.4 (21.9 g) 以树脂DIAION HP20SS色谱柱（4 cm × 30 cm）进行分离，以甲醇-水（0% ~ 100%，*V/V*）为洗脱剂进行梯度洗脱，得到化合物**1** (5.5 g)。Fr.6 (8.1 g) 经过MCI柱（3 cm × 23 cm），甲醇-水溶液（0% ~ 100%，*V/V*）梯度洗脱，得到Fr.61-Fr.66。Fr.61经Sephadex LH-20柱，甲醇-水溶剂分离，得到化合物**3** (66.0 mg)。Fr.62经甲醇溶剂反复结晶得到化合物**6** (46.2 mg)。Fr.63依次经MCI柱（甲醇-水溶液，0% ~ 100%，*V/V*）、HPLC液相色谱柱（50%甲醇-水溶液，*V/V*）纯化得到化合物 **2** (5.9 mg)。Fr.64经HPLC液相色谱柱，以25%乙腈-水溶液等度洗脱（*V/V*），纯化得到化合物**4** (30.7 mg) 和**5** (6.0 mg)。Fr.65经ODS柱色谱分离（甲醇-水溶液，0% ~ 100%，*V/V*），得到化合物**7** (78.3 mg)。Fr.66经ODS柱色谱，以甲醇-水溶液进行梯度洗脱（0% ~ 100%，*V/V*），得到化合物**8** (26.7 mg)。Fr.5 (4.6 g) 以ODS色谱柱进行分离，甲醇-水（0% ~ 100%，*V/V*）为洗脱剂进行梯度洗脱；再经Sephadex LH-20色谱柱纯化，得到化合物**9** (59.8 mg)。Fr.8 (5.4 g) 以MCI色谱柱进行分离，甲醇-水（0% ~ 100%，*V/V*）为洗脱剂进行梯度洗脱，得到化合物**10** (23.6 mg)。

1.4　α-葡萄糖苷酶抑制活性测试

α-葡萄糖苷酶抑制活性测试参考文献（Pan et al., 2020；梁森林等，2022）的方法，并作适当调整，以阿卡波糖为阳性对照药，对硝基苯-α-D-吡喃葡萄糖苷（PNPG，1 mmol • L^{-1}）为底物，磷酸缓冲液（PBS，50 mmol • L^{-1}）为溶剂系统，α-葡萄糖苷酶配置成0.25 U ·mL^{-1}。实验设置4个组：样品组、样品背景对照组、空白组和空白对照组，按表1的反应体系进行活性测试。具体步骤如下：首先，取96孔板，样品组依次加入样品溶液40 μL、α-葡萄糖苷酶溶液20 μL，样品背景对照组依次加入样品溶液40 μL、PBS缓冲液20 μL，空白组依次加入α-葡萄糖苷酶溶液20 μL、PBS缓冲液40 μL，空白对照组加入PBS缓冲液60 μL，接着将加液后的96孔板置于恒温箱中于37 ℃条件下平衡5 min，取出，再向各实验组加入PNPG溶液50 μL，并将其置于恒温箱中于37 ℃条件下反应30 min，取出，向各实验组加入Na_2CO_3溶液50 μL终止反应，于405 nm波长下测定并读取吸光度值，样品组的吸光度值记

为 A_1、样品背景对照组的吸光度值记为 A_2、空白组的吸光度值记为 B_1、空白对照组的吸光度值记为 B_2。按如下公式计算抑制率：抑制率 $= [1-(A_1-A_2)/(B_1-B_2)] \times 100\%$。所有数据均平行测试 3 次，测试结果以平均值 ± 标准偏差表示。

表 1 α-葡萄糖苷酶抑制活性测试反应体系（单位：μL）

Table 1 The reaction system of α-glucosidase inhibitory activity test (Unit: μL)

试剂 Reagent	样品组 Sample group	样品背景对照组 Sample background control group	空白组 Blank group	空白对照组 Blank control group
样品 Sample	40	40	—	—
α-葡萄糖苷酶 α-glucosidase	20	—	20	—
PBS	—	20	40	60
PNPG	50	50	50	50
Na_2CO_3	50	50	50	50

2　结果与分析

2.1　化合物的结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末，HR-ESI-MS *m/z*: 665.311 5 [M + Na]$^+$ (calcd for $C_{32}H_{50}O_{13}Na$, 665.314 4)。^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ: 5.38 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, 19-glc-H-1′′′), 5.10 (1H, s, H-17a), 4.89 (1H, s, H-17b), 4.58 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, 13-glc-H-1′), 3.22-3.86 (sugar proton), 1.22 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ: 178.6 (C-19), 153. 0 (C-16), 104.8 (C-17), 97.4 (13-glc-C-1′), 94.1 (19-glc-C-1′′), 86.5 (C-13), 76.8 (19-glc-C-5′′), 76.3 (13-glc-C-3′), 76.0 (19-glc-C-3′′), 75.8 (13-glc-C-5′),73.3 (13-glc-C-2′), 72.0 (19-glc-C-2′′), 69.8 (13-glc-C-4′), 69.4 (19-glc-C-4′′), 60.9 (13-glc-C-6′), 60.7 (19-glc-C-6′′), 57.1 (C-5), 53.5 (C-9), 47.2 (C-15), 44.0 (C-14), 43.9 (C-4), 42.1 (C-8), 41.0 (C-7), 40.5 (C-1), 39.3 (C-10), 37.7 (C-3), 36.3 (C-12), 28.1 (C-18), 21.4 (C-6), 20.4 (C-11), 18.8 (C-2), 15.0 (C-20)。以上数据与文献（王剑霞和吕华冲，2008）报道的基本一致，故化合物 **1** 鉴定为甜茶苷（图 1）。

化合物 **2** 黄色粉末，HR-ESI-MS *m/z*: 593.146 4 [M - H]$^-$ (calcd for $C_{27}H_{31}O_{15}$, 593.151 2)。^1H NMR (500 MHz, methanol-d_4) δ: 8.04 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2′, 6′), 6.83 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3′, 5′), 6.31 (1H, s, H-8), 6.12 (1H, s, H-6), 4.95 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, gal-H-1′′), 4.47

(1H, brs, rha-H-1′′′), 1.14 (3H, d, J = 6.2 Hz, rha-H-6′′′), 3.22–3.76 (sugar proton); ^{13}C NMR (125 MHz, methanol-d_4) δ: 180.0 (C-4), 168.4 (C-7), 163.4 (C-5), 162.2 (C-4′), 159.7 (C-9), 159.2 (C-2), 136.6 (C-3), 133.0 (C-2′, 6′), 123.3 (C-1′), 116.8 (C-3′, 5′), 106.3 (gal-C-1′′), 105.7 (C-10), 102.5 (rha-C-1′′′), 101.2 (C-6), 94.0 (C-8), 76.0 (gal-C-5′′), 75.7 (gal-C-3′′), 74.5 (rha-C-4′′′), 73.6 (rha-C-2′′′), 72.9 (rha-C-3′′′), 72.7 (gal-C-2′′), 70.8 (gal-C-4′′), 70.3 (rha-C-5′′′), 68.1 (gal-C-6′′), 18.6 (rha-C-6′′′)。以上数据与文献（Hou et al., 2005）报道的基本一致，故化合物 **2** 鉴定为山奈酚-3-*O*-洋槐糖苷（图 1）。

化合物 **3** 白色粉末，HR-ESI-MS *m/z*: 169.014 1 [M - H]$^-$ (calcd for $C_7H_5O_5$, 169.014 2)。^{1}H NMR (500 MHz, methanol-d_4) δ: 7.06 (2H, s, H-2, 6); ^{13}C NMR (125 MHz, methanol-d_4) δ: 170.5 (C-7), 146.4 (C-3, 5), 139.8 (C-4), 121.9 (C-1), 110.5 (C-2, 6)。以上数据与文献（吕闪闪等，2018）报道的基本一致，故化合物 **3** 鉴定为没食子酸（图 1）。

化合物 **4** 淡黄色的油状物，HR-ESI-MS *m/z*: 359.150 7 [M - H]$^-$ (calcd for $C_{20}H_{23}O_6$, 359.150 0)。^{1}H NMR (500 MHz, methanol-d_4) δ: 6.91 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.78 (1H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz, H-6), 6.72 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.68 (2H, s, H-2′, H-6′), 5.45 (1H, d, J = 6.2 Hz, H-7), 3.80 (3H, s, 3-OCH_3), 3.76 (3H, s, 3′-OCH_3), 3.71 (2H, m, H-9), 3.53 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-9′), 3.43 (1H, m, H-8), 2.58 (2H, m, H-7′), 1.77 (2H, m, H-8′); ^{13}C NMR (125 MHz, methanol-d_4) δ: 149.0 (C-3), 147.6 (C-4), 147.4 (C-2′), 145.2 (C-3′), 136.9 (C-5′), 134.8 (C-1), 129.8 (C-1′), 119.7 (C-6), 117.9 (C-6′), 116.1 (C-5), 114.0 (C-4′), 110.5 (C-2), 88.9 (C-7), 64.9 (C-9), 62.2 (C-9′), 56.7 (3-OCH_3), 56.3 (3′-OCH_3), 55.4 (C-8), 35.8 (C-8′), 32.9 (C-7′)。以上数据与文献（汪青青，2013）报道的基本一致，故化合物 **4** 鉴定为二聚松柏醇（图 1）。

化合物 **5** 淡黄色的油状物，HR-ESI-MS *m/z*: 413.151 1 [M + Na]$^+$ (calcd for $C_{21}H_{26}O_7Na$, 413.157 1)。^{1}H NMR (500 MHz, methanol-d_4) δ: 6.73 (2H, d, J = 2.2 Hz, H-2, H-6), 6.68 (2H, s, H-2′, H-6′), 5.50 (1H, d, J = 6.2 Hz, H-7), 3.86 (3H, s, 3′-OCH_3), 3.85 (2H, m, H-9), 3.81 (6H, s, 3-OCH_3, 5-OCH_3), 3.57 (2H, t, J = 6.4 Hz, H-9′), 3.47 (1H, m, H-8), 2.63 (2H, m, H-7′), 1.82 (2H, m, H-8′); ^{13}C NMR (125 MHz, methanol-d_4) δ: 149.3 (C-3), 149.3 (C-5),147.5 (C-3′), 145.2 (C-4′), 137.0 (C-4), 134.0 (C-1), 134.0 (C-1′), 129.8 (C-5′), 117.9 (C-6′), 114.1 (C-2′), 104.1 (C-2, 6), 89.1 (C-7), 65.0 (C-9), 62.6 (C-9′), 56.8 (C-8),

56.7 (3-OCH_3), 56.7 (5-OCH_3), 55.6 (3′-OCH_3), 35.8 (C-8′), 32.9 (C-7′)。以上数据与文献（汪青青，2013）报道的基本一致，故化合物 **5** 鉴定为5-甲氧基二聚松柏醇（图 1）。

化合物 **6** 黄色粉末，HR-ESI-MS *m/z*: 293.031 7 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{13}H_9O_8$, 293.029 2)。^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ: 10.92 (1H, s, -OH), 10.10 (2H, s, -OH × 2), 7.28 (1H, s, H-3′), 4.34 (1H, brs, H-4), 2.98 (1H, dd, J = 18.7, 7.6 Hz, H-5a), 2.42 (1H, d, J = 18.7 Hz, H-5b)；^{13}C NMR (125 MHz, DMSO) δ: 193.5 (C-1), 173.7 (C-6), 160.4 (C-7′), 149.7 (C-2), 145.8 (C-4′), 143.9 (C-6′), 140.3 (C-3), 139.2 (C-5′), 115.3 (C-2′), 113.2 (C-1′), 108.1 (C-3′), 41.1 (C-4), 37.6 (C-5)。以上数据与文献（Tanaka et al., 1990）报道的基本一致，故化合物 **6** 鉴定为云实酸（图 1）。

化合物 **7** 白色粉末，HR-ESI-MS *m/z*: 479.258 3 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{26}H_{39}O_8$, 479.265 0)。^1H NMR (500 MHz, methanol-d_4) δ: 5.20 (1H, s, H-17a), 4.87 (1H, s, H-17b), 4.51 (1H, d, J = 7.8 Hz, 13-glc-H-1′), 1.20 (3H, s, H-18), 0.99 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (125 MHz, methanol-d_4) δ: 181.6 (C-19), 154.0 (C-16), 105.5 (C-17), 99.2 (13-glc-C-1′), 87.6 (C-13), 78.1 (13-glc-C-3′), 77.6 (13-glc-C-5′), 75.2 (13-glc-C-2′), 71.6 (glc-C-4′), 62.7 (glc-C-6′), 58.1 (C-5), 55.2 (C-9), 49.0 (C-15), 45.1 (C-14), 44.6 (C-4), 43.2 (C-8), 42.6 (C-7), 41.9 (C-1), 40.6 (C-10), 39.1 (C-3), 38.7 (C-12), 29.5 (C-18), 23.0 (C-6), 21.4 (C-11), 20.3 (C-2), 16.2 (C-20)。以上数据与文献（Ohtani et al., 1992）报道的基本一致，故化合物 **7** 鉴定为斯替维单糖苷（图 1）。

化合物 **8** 白色粉末，HR-ESI-MS *m/z*: 317.211 0 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{20}H_{29}O_3$, 317.212 2)。^1H NMR (500 MHz, chloroform-d) δ: 4.98 (1H, s, H-17a), 4.81 (1H, s, H-17b), 1.23 (3H, s, H-18), 0.95 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (125 MHz, chloroform-d) δ: 183.4 (C-19), 155.8 (C-16), 103.2 (C-17), 80.5 (C-13), 57.0 (C-5), 54.0 (C-9), 47.6 (C-15), 47.1 (C-14), 43.7 (C-4), 41.9 (C-8), 41.4 (C-7), 40.6 (C-1), 39.6 (C-12), 39.5 (C-10), 37.9 (C-3), 29.0 (C-18), 21.9 (C-6), 20.6 (C-11), 19.2 (C-2), 15.6 (C-20)。以上数据与文献（Ohtani et al., 1992）报道的基本一致，故化合物 **8** 鉴定为斯替维醇（图 1）。

化合物 **9** 黄色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 329.246 4 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{20}H_{34}O_2Na$, 329.244 2)。^1H NMR (500 MHz, methanol-d_4) δ: 3.71 (1H, d, J = 11.3 Hz, H-17a), 3.61 (1H, d, J = 11.3 Hz, H-17b), 1.10 (3H, s), 1.07 (3H, s), 1.03 (3H, s); ^{13}C NMR (125 MHz, methanol-d_4) δ: 82.8 (C-16), 66.8 (C-17), 56.8 (C-5), 56.8 (C-9), 53.4 (C-15), 46.2 (C-13), 45.5 (C-8), 42.1 (C-1), 42.1 (C-3), 40.3 (C-14), 39.7 (C-10), 37.8 (C-7), 34.9 (C-4), 34.9 (C-18), 27.1 (C-12), 22.7 (C-19),

21.3 (C-6), 19.8 (C-2, 11), 18.4 (C-20)。以上数据与文献（Etse et al., 1987）报道的基本一致，故化合物 **9** 鉴定为 16α,17-二羟基对映贝壳杉烷（图 1）。

化合物 **10** 黄色粉末，HR-ESI-MS *m/z*: 463.086 0 [M - H]$^-$ (calcd for $C_{21}H_{19}O_{12}$, 463.088 2)。^{1}H NMR (500 MHz, methanol-d_4) δ: 7.85 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-2′), 7.60 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.3 Hz, H-6′), 6.88 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5′), 6.41 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 6.22 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-6), 5.17 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, gal-H-1′′), 3.48-3.87 (6H, m, gal-H-2′′-6′′); ^{13}C NMR (125 MHz, methanol-d_4) δ: 179.6 (C-4), 166.0 (C-7), 163.0 (C-5), 158.8 (C-2), 158.4 (C-9), 145.0 (C-4′), 145.8 (C-3′), 135.8 (C-3), 123.0 (C-6′), 122.9 (C-1′), 117.8 (C-5′), 116.1 (C-2′), 105.6 (C-10), 105.4 (gal-C-1′′), 99.9 (C-6), 94.7 (C-8), 77.2 (gal-C-5′′), 75.1 (gal-C-3′′), 73.2 (gal-C-2′′), 70.0 (gal-C-4′′), 62.0 (gal-C-6′′)。以上数据与文献（张维库等，2007）报道的基本一致，故化合物 **10** 鉴定为槲皮素-3-*O*-β-D-吡喃半乳糖苷（图 1）。

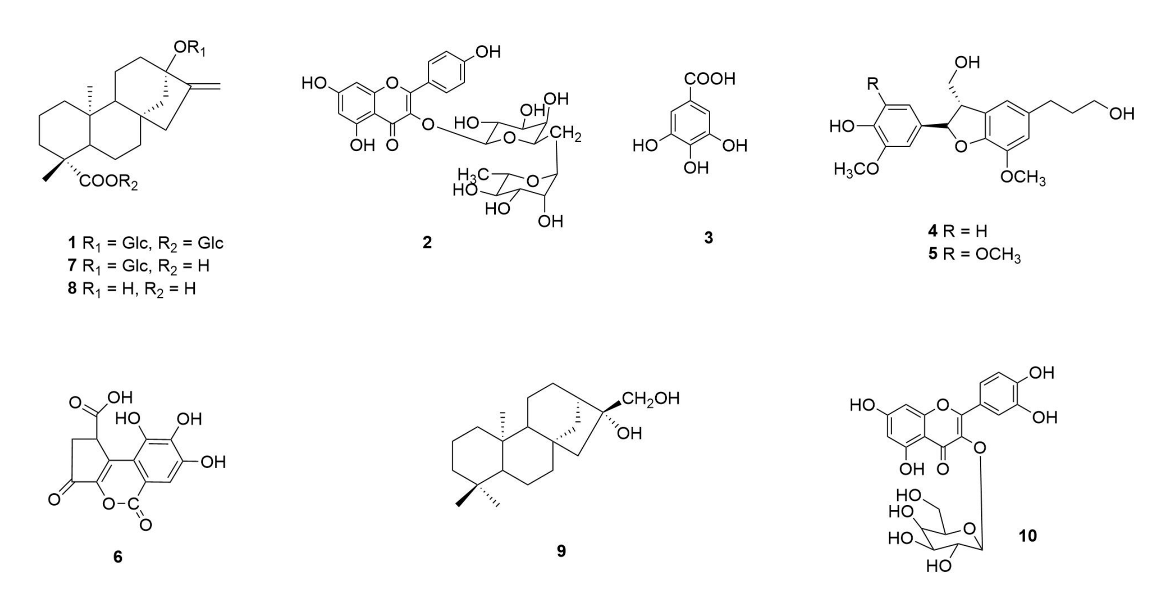


图 1 化合物 **1-10** 的化学结构式

Fig.1 Chemical structures of compounds **1-10**

2.2 α-葡萄糖苷酶抑制活性测试结果

α-葡萄糖苷酶的抑制活性测试结果显示，化合物 **2**、**3**、**5**、**6** 和 **10** 具有较强的活性，IC_{50}值分别为 (0.14 ± 0.03) mg · mL^{-1}、(0.36 ± 0.02) mg · mL^{-1}、(0.44 ± 0.01) mg · mL^{-1}、(0.53 ± 0.04) mg · mL^{-1} 和(0.14 ± 0.03) mg · mL^{-1}，均优于阳性对照（阿卡波糖，IC_{50}值为(0.69 ± 0.02) mg·mL^{-1}）。具体活性测试结果见表 2。

表 2 α-葡萄糖苷酶抑制活性的测试结果

Table 2 Results of α-glucosidase inhibitory activity

化合物	IC_{50} ± SD (mg·mL^{-1})	化合物	IC_{50} ± SD (mg·mL^{-1})

Compound		Compound	
1	> 4	**6**	0.53 ± 0.04**
2	0.14 ± 0.03	**7**	> 4
3	0.36 ± 0.02	**10**	0.14 ± 0.03**
4	> 4	阿卡波糖 [a]	0.69 ± 0.02
5	0.44 ± 0.01*	Acarbose [a]	

注：[a]表示阳性对照；**和*表示与阳性对照组比较，**$P < 0.01$，*$P < 0.05$。

Note: [a] indicates positive control; ** and * indicate comparisons with positive control group, **$P < 0.01$, *$P < 0.05$.

3　讨论与结论

α-葡萄糖苷酶抑制剂通过抑制小肠黏膜细胞的 α-葡萄糖苷酶的活性，降低葡萄糖的生成速度，从而减少小肠对葡萄糖的吸收以降低血糖，然而当前临床使用的该类药物具有较严重的副作用（朱月霞等，2021），因此，开发新型、安全、有效的 α-葡萄糖苷酶抑制剂对糖尿病的治疗具有重要意义，寻找天然的 α-葡萄糖苷酶抑制剂成为研究的热点（Quan et al., 2020; Yuca et al., 2021; 朱运平等，2011）。本研究基于甜茶提取物对 α-葡萄糖苷酶具有抑制作用（吴婕等，2021），对其开展化学成分及生物活性研究，从甜茶叶中分离得到 10 个化合物，化合物 **2**、**4**、**5**、**9** 为首次从甜茶中分离得到。其中，化合物 **2** 和 **10** 为黄酮苷类，化合物 **3** 和 **6** 为酚酸类，活性测试结果显示化合物 **2**、**3**、**6** 和 **10** 均具有较强的 α-葡萄糖苷酶抑制活性，与文献报道一致（Liu et al., 2019；岳丹伟，2021；Lin et al., 2022；薛深等，2023），化合物 **5** 为木脂素类，具有较强的 α-葡萄糖苷酶抑制活性，为首次报道。化合物 **5** 的结构与化合物 **4** 的相比，仅在 C-5 为多了一个甲氧基，化合物 **5** 表现出较强的活性，而化合物 **4** 在相同测试浓度下无活性，推测 C-5 位的甲氧基是关键的活性基团。

甜茶作为茶饮有悠久的历史，其主要成分甜茶苷的甜度是蔗糖的 300 倍，热量仅为蔗糖的 1%（马建春等，2008），具有高甜度、低热量的特点，是糖尿病患者理想的甜味剂，发达国家正大力开发相关产品，例如日本已有多种饮料、糖果和药品已上市（朱明婧等，2015）。而本研究从甜茶中发现了具有较好的 α-葡萄糖苷酶抑制活性的化学成分，进一步证实了其具有降血糖作用，为甜茶开发降血糖功能食品或降血糖药物提供了科学依据。

参考文献:

ETSE JT, GRAY A, WATERMAN PG, 1987. Chemistry in the Annonacesa, XXIV. Kaurane and kaur-16-ene diterpenes from the stem bark of *Annona reticulate*[J]. J Nat Pro, 50(5): 979-983.

Guangxi Food and Drug Administration, 2011. Zhuang Medicine Quality Standards of Guangxi Autonomous Region: Vol. 2 [S]. Nanning: Guangxi Science & Technology Press: 269. [广西

壮族自治区食品药品监督管理局，2011. 广西壮族自治区壮药质量标准：第二卷[S]. 南宁：广西科学技术出版社：269.]

HOU WC, LIN RD, LEE TH, et al., 2005. The phenolic constituents and free radical scavenging activities of *Gynura formosana* Kiamnra[J]. J Sci Food Agric, 85(4): 615-621.

LIU MZ, LI XJ, LIU Q, et al., 2020. Comprehensive profiling of α-glucosidase inhibitors from the leaves of *Rubus suavissimus* using an off-line hyphenation of HSCCC, ultrafiltration HPLC-UV-MS and prep-HPLC[J]. J Food Compost Anal, 85: 103336.

LÜ SS, WANG X, YE QZ, et al., 2018. Chemical constituents from the leaves of *Terminalia catappa* and their hypoglycemic activities[J]. Chin Trad Pat Med, 40(12): 2693-2697. [吕闪闪，王璇，叶全知，等，2018. 大叶榄仁叶化学成分及其降糖活性[J]. 中成药，40(12)：2693-2697.]

LIU MZ, HUANG XQ, LIU Q, et al., 2019. Separation of α-glucosidase inhibitors from *Potentilla kleiniana* Wight et Arn using solvent and flow-rate gradient high-speed counter-current chromatography target-guided by ultrafiltration HPLC-MS screening[J]. Phytochem Anal, 30: 661-668.

LIN YT, LIN HR, YANG CS, et al., 2022. Antioxidant and anti-α-glucosidase activities of various solvent extracts and major bioactive components from the fruits of *Crataegus pinnatifida*[J]. Antioxidants, 11: 320.

LIANG SL, HUANG YL, HE RJ, et al., 2022. Separation and preparation of alkaloids with inhibitory activity of α-glucosidase from *Sophora tonkinensis* by pH-zone-refining counter-current chromatography[J]. Guihaia, 42(9): 1459-1465. [梁森林，黄永林，何瑞杰，等，2022. pH 区带精制逆流色谱法分离制备越南槐中具有抑制 α-糖苷酶活性的生物碱[J]. 广西植物，2022，42(9)：1459-1465.]

MENG SJ, YAN ZG, XU YL, et al., 2019. Effects of extract of *Rubus Suavissimus* S. Lee on blood sugar and glucose tolerance in mice[J]. Hubei Agric Sci, 58(20): 118-120. [蒙淑洁，闫志刚，徐永莉，等，2019. 广西甜茶醇提物对小鼠血糖及糖耐量的影响[J]. 湖北农业科学，58(20)：118-120.]

MA JC, HE W, WU ZF, 2008. Progress on rubusoside in *Rubus suavissimu* S. Lee[J]. Food Drug, 10(5): 73-75. [马建春，何伟，伍振峰，2008. 甜茶素的研究进展[J]. 食品与药品，10(5): 73-75.]

OHTANI K, AIKAWA Y, KASAI R, et al., 1992. Minor diterpene glycosides from sweet leaves of *Rubus suavissimus*[J]. Phytochemistry, 31(5): 1553-1559.

PAN ZH, NING DS, FU YX, et al., 2020. Preparative isolation of piceatannol derivatives from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds by high-speed countercurrent chromatography combined with high-performance liquid chromatography and screening for α-glucosidase inhibitory activities[J]. J Agric Food Chem, 68(6): 1555-1562.

QUAN YS, ZHANG XY, YIN XM, et al., 2020. Potential α-glucosidase inhibitor from *Hylotelephium erythrostictum*[J]. Bioorg Med Chem Lett, 30(24): 127665.

SU ZH, LING X, JI KW, et al., 2020. ^{1}H NMR-based urinary metabonomic study of the antidiabetic effects of *Rubus Suavissimus* S. Lee in STZ-induced T1DM rats[J]. J Chromatogr B, 1158: 122347.

TANAKA T, NONAKA G, NISHIOKA I, 1990. Tannins and related compounds. C.[1)] Reaction of dehydrohexahydroxydiphenic acid esters with bases, and its application to the structure

determination of pomegranate tannins, granatins A and B[J]. Chem Pharm Bull, 38(9): 2424-2428.

WU JC, LI SP, ZHANG YY, et al., 2021. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Rubus suavissimus*[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 36(6): 3504-3508. [吴家超，李水萍，张永怡，等，2021. 民族药甜茶化学成分与药理作用研究进展[J]. 中华中医药杂志，36(6)：3504-3508.]

WU J, GONG JN, 2021. Purification of polyphenols from sweet tea by the macroporous resins and its inhibitory activity on α-glucosidase and DPPH[J]. J Agric Sci Technol, 23(6): 113-119. [吴婕，宫江宁，2021. 大孔树脂纯化茶多酚及其对α-葡萄糖苷酶抑制活性和DPPH 抗氧化性的研究[J]. 中国农业科技导报，23(6)：113-119.]

WANG JX, LU HC, 2008. Studies on the diterpenoids of *Rubus suavissimus* S. Lee[J]. Lishizhen Med Mat Med Res, 19(3): 664-665. [王剑霞，吕华冲，2008. 广西甜茶二萜类成分的研究[J]. 时珍国医国药，19(3)：664-665.]

WANG QQ, 2013. Studies on chemical constituents of *Rhododenron seniavinii* Maxim[D]. Guangzhou: Jinan University. [汪青青，2013. 满山白化学成分研究[D]. 广州：暨南大学.]

XUE S, WANG YJ, LIU FF, et al., 2023. Study on the inhibition mechanisms of gallic acid derivatives on α-glucosidase[J]. J Zhejiang Norm Univ (Nat Sci Ed), 46(1): 74-80. [薛琛，王怡婷，刘芬芬，等，2023. 没食子酸衍生物抑制α-葡萄糖苷酶的机理研究[J]. 浙江师范大学学报（自然科学版），46(1)：74-80.]

YAN ZG, MENG SJ, WEI RC, et al., 2017. Current situation and application of *Rubus suavissimus*[J]. Chin Trad Herb Drugs, 48(12): 2572-2578. [闫志刚，蒙淑洁，韦荣昌，等，2017. 广西甜茶研究与应用现状[J]. 中草药，48(12)：2572-2578.]

YUCA H, ÖZBEK H, DEMIREZER LÖ, et al., 2021. *trans*-Tiliroside: a potent α-glucosidase inhibitor from the leaves of *Elaeagnus angustifolia* L[J]. Phytochemistry, 188: 112795.

YUE DW, 2021. Study on chemical constituents, antioxidant and hypoglycemic activities of flavonoids from *Flos. Dolichoris lablab* L.[D]. Wuhu: Anhui Polytechnic University. [岳丹伟，2021. 白扁豆花黄酮类化合物分离鉴定及其抗氧化、降糖活性研究[D]. 芜湖：安徽工程大学.]

ZHENG H, WEI QM, MENG CM, et al., 2019. The study of *Rubus suavissimus* S. Lee (RS) improving the diabetic complications of the streptozotocin (STZ) rats by promoting mitophagy [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 28(10): 22-26. [郑华，魏秋梅，孟春梅，等，2019. 瑶山甜茶通过调节线粒体自噬改善糖尿病大鼠并发症的实验研究[J]. 中国民族民间医药，28(10)：22-26.]

ZHU YX, SHAO ZB, WU XX, et al., 2021. Research progress of α-glucosidase inhibitors from marine natural products[J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 37(2): 311-320. [朱月霞，邵仲柏，吴小小，等，2021. 海洋天然产物中α-葡萄糖苷酶抑制剂研究进展[J]. 南京中医药大学学报，37(2)：311-320.]

ZHANG WK, ZHANG XQ, YE WC, et al., 2007. Chemical constituents of the aerial parts of *Euphorbia sosoria*[J]. J Chin Pharm Univ, 38(4): 315-319. [张维库，张晓琦，叶文才，2007. 对叶大戟地上部分的化学成分[J]. 中国药科大学学报，38(4)：315-319.]

ZHU YP, LI XT, LI LT, 2011. The source of natural α-glucosidase inhibitor and its application research situation[J]. J Chin Instit Food Sci Technol, 11(4): 154-160. [朱运平，李秀婷，李里特，2011. 天然α-葡萄糖苷酶抑制剂来源及应用研究现状[J]. 中国食品学报，11(4)：154-160.]

ZHU MJ, LIU B, LI FF, 2015. Research progress and development prospect of natural swweteners[J]. Chin Cond, 40(11): 136-140. [朱明婧，刘博，李飞飞，2015. 天然甜味剂研究进展与开发前景分析[J]. 中国调味品，40(11)：136-140.]